

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 10 November 2000 (10.11.00)	
<b>International application No.</b> PCT/JP00/02295	<b>Applicant's or agent's file reference</b> B-591MSOP975
<b>International filing date</b> (day/month/year) 07 April 2000 (07.04.00)	<b>Priority date</b> (day/month/year) 09 April 1999 (09.04.99)
<b>Applicant</b> GUNJI, Yoshiya et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

22 September 2000 (22.09.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer  Maria Kirchner  Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	--

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600 2903

JAN 24 2002

RECEIVED

Applicant's or agent's file reference B-591MSOP975	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/02295	International filing date ( <i>day month year</i> ) 07 April 2000 (07.04.00)	Priority date ( <i>day month year</i> ) 09 April 1999 (09.04.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 1/21, 1/32, 9/00, 15/52, C12P 13/04		
Applicant AJINOMOTO CO., INC.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>10</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 22 September 2000 (22.09.00)	Date of completion of this report 02 May 2001 (02.05.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

## IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☒ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See supplemental sheet for continuation of Box IV. 3.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3.

The requirement of unity of invention in international application (PCT Rule 13.1) shall be fulfilled only when there is a technical relationship among those inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. The expression "special technical feature" shall mean those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art (PCT Rule 13.2). The determination whether a group of inventions is so linked to form a single general inventive concept shall be made without regard to whether the inventions are claimed in separate claims or as alternatives within a single claim (PCT Rule 13.3).

The matter in common among the inventions set forth in Claims 1 to 25 is a "bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-amino acid productivity". However, Document A (JP, 56-140893, A) and Document B (Nature, 287 (5781), 396-401 (1980)) describe a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and carrying *Escherichia coli*-origin glutamate dehydrogenase (GDH) gene transferred in a state of allowing the expression thereof. Furthermore, a process of producing an amino acid by culturing this bacterium is disclosed in Document 1 (See, for example, Claim 19 and thereafter). As also stated in the description (page 13) of the present international application, GDH gene is a gene imparting an L-glutamic acid productivity to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*. Therefore, it can be said that the bacterium belonging to the genus *Methylophilus* as described in Document 1 or Document 2 is a "bacterium

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3.

belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-glutamic acid productivity". Accordingly, a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having a productivity of L-glutamic acid, i.e. one of the L-amino acids is already publicly known. Thus, the "bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-glutamic acid productivity" which is the common matter to the inventions set forth in Claims 1 to 25 cannot be regarded as a "special technical feature" as defined in PCT Rule 13.2.

Furthermore, a dihydrodipicolinate synthase gene (i.e. a gene capable of imparting an L-lysine productivity to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*) originating in a bacterium belonging to the genus *Corynebacterium* is already publicly known (see, for example, Document C (Nucleic Acid Res., 18(21), 6421 (1990))). Accordingly, the "special technical feature" common to the inventions set forth in Claims 16 to 25 is not an "enzyme gene being usable in enhancing the L-lysine productivity of a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*" but an "enzyme gene originating in a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and being usable in enhancing the L-lysine productivity of a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*". Thus, it may be said that there is no "special technical feature" as defined in PCT Rule 13.2 between the group of inventions as set forth in Claims 1 to 15 relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-lysine productivity and the group of inventions as set forth in Claims 16 to 25.

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3.

Such being the case, the claims involve the following six groups of inventions:

1. Inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-lysine productivity as set forth in Claims 1 to 15;
2. Inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-valine productivity as set forth in Claims 1 to 15;
3. Inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-leucine productivity as set forth in Claims 1 to 15;
4. Inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-isoleucine productivity as set forth in Claims 1 to 15;
5. Inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-threonine productivity as set forth in Claims 1 to 15; and
6. Inventions set forth in Claims 16 to 25.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/JP 00/02295

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2, 3, 5-10, 15, 16, 18, 20, 22, 24	YES
	Claims	1, 4, 11-14, 17, 19, 21, 23, 25	NO
Inventive step (IS)	Claims	2, 3, 5-10, 15, 16, 18, 20, 22, 24	YES
	Claims	1, 4, 11-14, 17, 19, 21, 23, 25	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-25	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

- Document 1: EP, 35831, A2 (Imperial Chemical Industries, Ltd.), September 16, 1981 (16.09.81)
- Document 2: WINDASS, J.D. et al., "Improved conversion of methanol to single-cell protein by *Methylophilus methylotrophus*", Nature, October 2, 1980, Volume 287, pp. 396 to 401
- Document 3: Schendel, Frederick J. et al., "Cloning and Nucleotide Sequence of the Gene Coding for Aspartokinase II from a Thermophilic Methylophilic *Bacillus* sp.", Applied and Environmental Microbiology, September 1992, Volume 58, Number 9, pp. 2806 to 2814 & GenBank Accession No. M93419
- Document 4: HOANG, Tung T. et al., "Molecular genetic analysis of the region containing the essential *Pseudomonas aeruginosa* and gene encoding aspartate- $\beta$ -semialdehyde dehydrogenase", Microbiology, March 1997, Volume 143, Part 3, pp. 899 to 907 & Gen Bank Accession No. U11055
- Document 5: BONNASSIE, S. et al., "Nucleotide sequence of the dapA gene from *Corynebacterium glutamicum*", Nucleic Acids Research, November 11, 1990 (Volume 18, Number 21, page 6421 &



GenBank Accession No. X53993

Document 6: BOUVIER, J. et al., "Nucleotide Sequence and Expression of the *Escherichia coli* *dapB* Gene", The Journal of Biological Chemistry, December 10, 1984, Volume 259, Number 23, pp. 14829 to 14834 & GenBank Accession No. M10611

Document 7: DEKKERS, Linda C. et al., "A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365", Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, June 9, 1998, Volume 95, Number 12, pp. 7051 to 7056 & GenBank Accession No. Y12268

Claims 1, 4 and 11 to 14

The invention disclosed in Claims 1, 4 and 11 to 14 lack novelty over Document 1 or Document 2 cited in the international search report.

Documents 1 and 2 disclose a method for producing L-glutamic acid wherein by transferring *Methylophilus methylotrophus* bacterium by using a glutamate dehydrogenase (GDH) gene from *Escherichia coli*, bacterium belonging to the genus *Methylophilus* is acquired in which the activity of the L-glutamic acid biosynthesis enzyme is increased, which is then cultured to produce L-glutamic acid.

Claim 17

The invention disclosed in Claim 17 lacks novelty over Document 3.

Document 3 discloses DNA which codes for aspartokinase II from *Bacillus* sp. Moreover, Claim 17 of this international application describes "DNA hybridized with a probe having one part of a nucleotide sequence comprising the nucleotide sequence of 510-1736 of SEQ. ID. NO: 5

under the stringent conditions, as well as coding for a protein having aspartokinase activity". Since this "one part" could be any part, any "DNA coding for a protein having aspartokinase activity" would fulfill the criteria of the DNA in Claim 17. Therefore, it may be said that the DNA disclosed in Document 3 is the DNA disclosed in Claim 17.

#### Claim 19

The invention disclosed in Claim 19 lacks novelty over Document 4 cited in the international search report.

Since Document 4 discloses DNA coding for aspartate- $\beta$ -semialdehyde dehydrogenase from *Pseudomonas aeruginosa*, the DNA disclosed in Document 4 is the same DNA as that disclosed in Claim 19 for the same reasons as those given with regards to Claim 17.

#### Claim 21

The invention disclosed in Claim 21 lacks novelty over Document 5 cited in the international search report.

Since Document 5 discloses DNA coding for L-2,3-dihydrodipicolinic acid synthetic enzyme from *Corynebacterium glutamicum*, the DNA disclosed in Document 5 is the same DNA as that disclosed in Claim 21 for the same reasons as those given with regards to Claim 17.

#### Claim 23

The invention disclosed in Claim 23 lacks novelty over Document 6 cited in the international search report.

Since Document 6 discloses DNA coding for dihydrodipicolinic acid reductase from *Escherichia coli*, the DNA disclosed in Document 6 is the same DNA as that disclosed in Claim 23 for the same reasons as those given with regards to Claim 17.

## Claim 25

The invention disclosed in Claim 25 lacks novelty over Document 7 cited in the international search report.

Since Document 7 discloses DNA (LysA) coding for meso-diaminopimelic decarboxylase from *Pseudomonas fluorescens*, the DNA disclosed in Document 7 is the same DNA as that disclosed in Claim 25 for the same reasons as those given with regards to Claim 17.

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING  
SUBMISSION OR TRANSMITTAL  
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)


To:

TOYAMA, Tsutomu  
Yokoyama Building, 6th Floor  
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome  
Chuo-ku  
Tokyo 103-0004  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 01 May 2000 (01.05.00)	
Applicant's or agent's file reference B-591MSOP975	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/02295	International filing date (day/month/year) 07 April 2000 (07.04.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 09 April 1999 (09.04.99)
Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An **asterisk (\*)** appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The **letters "NR"** appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
09 April 1999 (09.04.99)	11/103143	JP	26 April 2000 (26.04.00)
16 June 1999 (16.06.99)	11/169447	JP	26 April 2000 (26.04.00)
24 Dec 1999 (24.12.99)	11/368097	JP	26 April 2000 (26.04.00)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer  Y. KUWAHARA Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

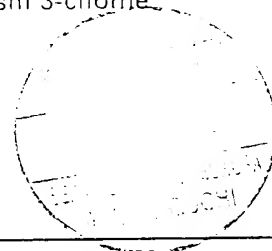
PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE  
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL  
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TOYAMA, Tsutomu  
Yokoyama Building, 6th Floor  
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome  
Chuo-ku  
Tokyo 103-0004  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 19 October 2000 (19.10.00)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference B-591MSOP975			
International application No. PCT/JP00/02295	International filing date (day/month/year) 07 April 2000 (07.04.00)	Priority date (day/month/year) 09 April 1999 (09.04.99)	
Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:  
AU,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:  
BR,CA,CN,CZ,EP,HU,ID,JP,MX,PL,RU,SK,VN,ZA

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on  
19 October 2000 (19.10.00) under No. WO 00/61723

**REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)**

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

**REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))**

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N1/21, 1/32, 9/00, 15/52, C12P13/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N1/20-1/21, 9/00-9/99, 15/52-15/61,  
C12P13/04-13/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq,  
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 35831, A2 (IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED), 16 September, 1981 (16.09.81) & NO, 8100773, A & DK, 8100952, A & JP, 56-140893, A & PT, 72630, A & CA, 1187011, A & DE, 3173415, G & RO, 92662, A	1, 4, 11-14
X	WINDASS, J. D. et al., "Improved conversion of methanol to single-cell protein by Methylophilus methylophilus", Nature, October 2, 1980, Volume 287, pp. 396-401	1, 4, 11-14
X	SCHENDEL, Frederick J. et al., "Cloning and Nucleotide Sequence of the Gene Coding for Aspartokinase II from a Thermophilic Methylophilic Bacillus sp.", Applied and En- vironmental Microbiology, September 1992, Volume 58, Number 9, pages 2806-2814 GenBank Accession No. M93419	17
X	HOANG, Tung T. et al., "Molecular genetic analysis of the region containing the essential Pseudomonas aeruginosa asd gene encoding aspartate- $\beta$ -semialdehyde	19



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

- \* Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
05 July, 2000 (05.07.00)Date of mailing of the international search report  
18 July, 2000 (18.07.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	dehydrogenase", Microbiology, March 1997, Volume 143, Part 3, pp. 899-907 GenBank Accession No.U11055	
X	YAMAMOTO, Yoshihiro et al., "Construction of a Contiguous 874-kb Sequence of the Escherichia coli-K12 Genome corresponding to 50.5-68.8 min on the Linkage Map and Analysis of Its Sequence Features", DNA Research, April 28, 1997, Volume 4, Number 2, pp.91-113 GenBank Accession No. D90877	21
X	BONNASSIE, S. et al., "Nucleotide sequence of the dapA gene from Corynebacterium glutamicum", Nucleic Acids Research, November 11, 1990, Volume 18, Number 21, page 6421 GenBank Accession No.X53993	21
X	BOUVIER, J. et al., "Nucleotide Sequence and Expression of the Escherichia coli dapB Gene", The Journal of Biological Chemistry, December 10, 1984, Volume 259, Number 23, pp.14829-14834 GenBank Accession No. M10611	23
X	DEKKERS, Linda C. et al., "A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by Pseudomonas fluorescens WCS365", Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, June 9, 1998, Volume 95, Number 12, pp.7051-7056 GenBank Accession No.Y12268	25
A	EP, 37273, A2 (IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED), 07 October, 1981 (07.10.81) & BR, 8101907, A & DK, 8101404, A & JP, 57-8782, A & ZA, 8102086, A & CA, 1187012, A & IL, 62514, A & DE, 3175828, G & KR, 8701127, B	1-25
A	WO, 96/41871, A1 (Ajinomoto Co., Inc.) 27 December, 1996 (27.12.96) & EP, 834559, A1 & SK, 9701705, A3 & CN, 1203629, A & HU, 9900149, A2 & US, 5989875, A & MX, 9710044, A1	1-25
A	Kerney, P. et al., "Regulation and routes of biosynthesis of serine and arginine in Methylophilus methylotrophus ASI", FEMS Microbiology Letters, July 1987, Volume 42, Nos.2-3, pp. 109- 112	1-25
A	JP, 1-235595, A (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.) 20 September, 1989 (20.09.89) (Family: none)	1-25
A	JP, 53-34987, A (Yoshiki Tani) 31 March, 1978 (31.03.78)	1-25

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The requirement of unity of invention in international application (PCT Rule 13.1) is not satisfied unless there is a technical relationship in a group of inventions involving one or more of the same or corresponding technical features. The term "technical feature" means a technical feature clearly showing the contribution to the prior art by the inventions as set forth in claims as a whole (PCT Rule 13.2). The requirement of unity of invention is judged without considering whether a group of inventions are described in separate claims or in a single claim in an alternative form (PCT Rule 13.3).

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☒

No protest accompanied the payment of additional search fees.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02295

Continuation of Box No. II of continuation of first sheet(1)

Inventions as set forth in claims 1 to 25 have a matter in common of a "bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-amino acid productivity". However, document 1 (Japanese Patent Laid-Open No. 140893/1981) and document 2 (Nature, 287(5781), 396-401 (1980)) describe a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and carrying *Escherichia coli*-origin glutamate dehydrogenase (GDH) gene transferred in a state of allowing the expression thereof. Furthermore, a process for producing an amino acid by culturing this bacterium is stated in document 1 (see, for example, claim 19 and thereafter). As also stated in the description (p. 13) of the present international application, GDH gene is a gene imparting an L-glutamic acid productivity to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*. Therefore, it can be said that the bacterium belonging to the genus *Methylophilus* as described in document 1 or document 2 is a "bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-glutamic acid productivity". Accordingly, there had been publicly known a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having a productivity of L-glutamic acid, i.e., one of L-amino acids. Thus, the "bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-amino acid productivity" which is the matter common to inventions as set forth in claims 1 to 25 cannot be regarded as a "special technical feature" as defined in PCT Rule 13.2.

Also, there had been publicly known a dihydrodipicolinate synthase gene (i.e., a gene capable of imparting an L-lysine productivity to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*) originating in a bacterium belonging to the genus *Corynebacterium* (see, for example, document 3 (Nucleic Acids Res., 18(21), 6421 (1990))). Accordingly, the "special technical feature" common to inventions as set forth in claims 16 to 25 is not an "enzyme gene being usable in enhancing the L-lysine productivity of a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*" but an "enzyme gene originating in a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and being usable in enhancing the L-lysine productivity of a bacterium belonging to the genus *Methylophilus*". Thus, it may be said that there is no "special technical feature" as defined in PCT Rule 13.2 between the group of inventions as set forth in claims 1 to 15 relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-lysine productivity and the group of inventions as set forth in claims 16 to 25.

Such being the case, the claims involve the following six groups of inventions:

- ① inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-lysine productivity as set forth in claims 1 to 15;
- ② inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-valine productivity as set forth in claims 1 to 15;
- ③ inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-leucine productivity as set forth in claims 1 to 15;
- ④ inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-isoleucine productivity as set forth in claims 1 to 15;
- ⑤ inventions relating to a bacterium belonging to the genus *Methylophilus* and having an L-threonine productivity as set forth in claims 1 to 15; and
- ⑥ inventions as set forth in claims 16 to 25.



P.B. 5818 - Patentia  
2280 HV Rijswijk (Zr.,  
☎ (070) 340 2040  
Tx 31651 epo nl  
FAX (070) 340 3016

Europäisches  
Patentamt  
Zweigstelle in  
Den Haag  
Recherchen-  
abteilung

European  
Patent Office  
Branch at  
The Hague  
Search  
Division

Office européen  
des brevets  
Département à  
La Haye  
Division de la  
recherche

Strehl Schübel-Hopf & Partner  
Maximilianstrasse 54  
80538 München  
ALLEMAGNE

Erhalten  
16. APR. 2003  
Strehl et al.

Datum/Date  
15. 04. 03

Zeichen/Ref./Réf. EPA-53711	Anmeldung Nr./Application No./Demande n° // Patent Nr./Patent No./Brevet n° 00915436.0-2401/JP0002295
Anmelder/Applicant/Demandeur//Patentinhaber/Proprietor/Titulaire Ajinomoto Co., Inc.	

Fr.: 25. Mai 03 id  
Btg: 15. Mai 03 id

## COMMUNICATION

The European Patent Office herewith transmits the supplementary partial European search report under Rule 46(1) EPC relating to the above-mentioned European patent application.

Copies of the documents cited in the search report are enclosed.

The applicant's attention is drawn to the following:

The search Division informs the applicant that if the European search report is also to cover inventions other than the invention first mentioned in the claims, a further search fee must be paid for each of these inventions, within ONE MONTH after notification of this communication.

If the application has been filed up to 30 June 1999, the search fee in force before 01 July 1999 (EUR 869,-) or the equivalent applicable on the date of payment is payable.  
This applies also to the search fees requested under Rule 46(1) EPC.

See also OJ EPO 06/1999, 405.

☒ The abstract was modified by the Search Division and the definitive text is attached to the present communication.

☐ Additional set(s) of copies of the documents cited in the European search report is (are) enclosed as well.



### Note to users of the automatic debiting procedure:

Unless the EPO receives prior instructions to the contrary, the search fee(s) will be debited on the last day of the period for payment. For further details see the Arrangements for the automatic debiting procedure, Supplement to OJ EPO 02/1999.

REGISTERED LETTER

EPO Form 1507.2 (07.99)



## Application Number

under Rule 46, paragraph 1 of the European Patent Convention EP 00 91 5436

page 1 of 2



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.C1.7)
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	
X	US 4 824 786 A (HANSON RICHARD S ET AL) 25 April 1989 (1989-04-25) * column 2, line 57 - column 3, line 14 * * column 4, line 40 - line 59 * * column 8, line 8 - line 16 * * column 9, line 17 - line 25 * -----	1,3, 11-14	
			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.C1.7)



The Search Division considers that the present European patent application does not comply with the requirements of unity of invention and relates to several inventions or groups of inventions, namely:

1. Claims: 1-9,11-15 (all partially)

Methylophilus bacterium having L-lysine producing ability, its production and use for producing L-lysine

2. Claims: 1-4,11-15 (all partially)

Methylophilus bacterium having L-valine producing ability, its production and use for producing L-valine

3. Claims: 1-4,11-15 (all partially)

Methylophilus bacterium having L-leucine producing ability, its production and use for producing L-leucine

4. Claims: 1-4,8,10-15 (all partially)

Methylophilus bacterium having L-isoleucine producing ability, its production and use for producing L-isoleucine

5. Claims: 1-4,8,10-15 (all partially)

Methylophilus bacterium having L-threonine producing ability, its production and use for producing L-threonine

6. Claims: 16,17

DNA (SEQ-ID 5) and encoded protein (SEQ-ID 6) having aspartokinase activity

7. Claims: 18,19

DNA (SEQ-ID 7) and encoded protein (SEQ-ID 8) having aspartic acid semialdehyde dehydrogenase activity

8. Claims: 20,21

DNA (SEQ-ID 9) and encoded protein (SEQ-ID 10) having dihydrodipicolinate synthase activity

9. Claims: 22,23

DNA (SEQ-ID 11) and encoded protein (SEQ-ID 12) having dihydrodipicolinate reductase activity

10. Claims: 24,25

DNA (SEQ-ID 13) and encoded protein (SEQ-ID 14) having diaminopimelate decarboxylase activity

The search was based on invention 1, i.e. methylophilus bacterium having



The Search Division considers that the present European patent application does not comply with the requirements of unity of invention and relates to several inventions or groups of inventions, namely:

L-lysine producing ability, its production and use for producing L-lysine.

**ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT  
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.**

EP 00 91 5436

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

18-03-2003

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8702984      A	21-05-1987	AU 6737287 A	02-06-1987
		EP 0245497 A1	19-11-1987
		JP 63501687 T	14-07-1988
		WO 8702984 A1	21-05-1987
US 4824786      A	25-04-1989	CA 1335576 A1	16-05-1995

EPO FORM 170459

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

PCT

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 18 MAY 2001

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 B-591MSOP975	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/02295	国際出願日 (日.月.年) 07.04.00	優先日 (日.月.年) 09.04.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl <sup>7</sup> C12N1/21, 1/32, 9/00, 15/52, C12P13/04		
出願人(氏名又は名称)  味の素株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で          ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☒ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 22.09.00	国際予備審査報告を作成した日 02.05.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員)  内 田 俊 生 印	4B 8214
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                          |            |   |       |        |                      |
|--------------------------|------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

## IV. 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☒ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

- 2
- ☐
- 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

国際出願における発明の単一性の要件（PCT規則13.1）は、請求の範囲に記載された一群の発明の間に一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的關係があるときに限り、満たされるものであって、この「特別な技術的特徴」とは、請求の範囲に記載された各発明が全体として先行技術に対して行う貢献を明示する技術的特徴のことである（PCT規則13.2）。また、発明の単一性の要件の判断は、一群の発明が別個の請求の範囲に記載されているか単一の請求の範囲に択一的な形式によって記載されているかを考慮することなく行われる（PCT規則13.3）。

そこで、請求の範囲の記載をみると、請求の範囲1-25の発明に共通する事項は「L-アミノ酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」である。ところで、文献A「特開昭56-140893号公報」及び文献B「Nature, 287(5781), 396-401(1980)」をみると、そこには、大腸菌由来のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ（GDH）遺伝子を発現し得る状態で導入したメチロフィラス属細菌が記載されており、文献Aには更に、この細菌を培養してアミノ酸を製造することについても記載されている（例えば、特許請求の範囲第19項以下参照）。そして、GDH遺伝子は、本国際出願の明細書第13ページにも記載されているように、メチロフィラス属細菌にL-グルタミン酸生産能を付与する遺伝子であるから、文献A又は文献Bに記載のメチロフィラス属細菌は「L-グルタミン酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」であるといえる。そうすると、L-アミノ酸の一種であるL-グルタミン酸生産能を有するメチロフィラス属細菌は公知であったから、請求の範囲1-25の発明に共通する事項である「L-アミノ酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」は、PCT規則13.2における「特別な技術的特徴」であるとはいえない。

また、メチロフィラス属細菌にL-リジン生産能を付与し得る遺伝子であるコリネバクテリウム属細菌由来のジヒドロジピコリン酸合成酵素の遺伝子

4. したがって、この国際予備審査報告書を作成するに際して、国際出願の次の部分を、国際予備審査の対象にした。

- ☒ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ に関する部分

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	2, 3, 5-10, 15, 16, 18, 20, 22, 24	有
	請求の範囲	1, 4, 11-14, 17, 19, 21, 23, 25	無
進歩性(IS)	請求の範囲	2, 3, 5-10, 15, 16, 18, 20, 22, 24	有
	請求の範囲	1, 4, 11-14, 17, 19, 21, 23, 25	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-25	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

- 文献1: EP, 35831, A2 (IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED)  
16.9月.1981 (16.09.81)
- 文献2: WINDASS, J. D. et al., "Improved conversion of methanol to single-cell protein by *Methylophilus methylotrophus*",  
Nature, October 2, 1980, Volume 287, pages 396-401
- 文献3: SCHENDEL, Frederick J. et al., "Cloning and Nucleotide Sequence of the Gene Coding for Aspartokinase II from a Thermophilic Methylophilic *Bacillus* sp.",  
Applied and Environmental Microbiology, September 1992, Volume 58, Number 9, pages 2806-2814 & GenBank Accession No.M93419
- 文献4: HOANG, Tung T. et al., "Molecular genetic analysis of the region containing the essential *Pseudomonas aeruginosa asd* gene encoding aspartate- $\beta$ -semialdehyde dehydrogenase",  
Microbiology, March 1997, Volume 143, Part 3, pages 899-907  
& GenBank Accession No.U11055
- 文献5: BONNASSIE, S. et al., "Nucleotide sequence of the dapA gene from *Corynebacterium glutamicum*",  
Nucleic Acids Research, November 11, 1990, Volume 18, Number 21, page 6421 & GenBank Accession No.X53993
- 文献6: BOUVIER, J. et al., "Nucleotide Sequence and Expression of the *Escherichia coli* dapB Gene",  
The Journal of Biological Chemistry, December 10, 1984, Volume 259, Number 23, pages 14829-14834 & GenBank Accession No.M10611
- 文献7: DEKKERS, Linda C. et al., "A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365",  
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, June 9, 1998, Volume 95, Number 12, pages 7051-7056 & GenBank Accession No.Y12268

請求の範囲 1, 4, 11-14

請求の範囲 1, 4, 11-14 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献1又は文献2により、新規性を有しない。

文献1又は文献2には、大腸菌由来のグルタメートデヒドロゲナーゼ遺伝子を用いてメチロフィラス・メチロトロファス種菌株を形質転換することにより、L-グルタ

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

## 第 IV 欄の続き

は、例えば文献C「Nucleic Acids Res., 18(21), 6421(1990)」にも記載されているように公知であったから、請求の範囲16-25の発明に共通する「特別な技術的特徴」は、「メチロフィラス属細菌のL-リジン生産能を増強するために使用できる酵素遺伝子」ではなく、「メチロフィラス属細菌のL-リジン生産能を増強するのに使用できる、メチロフィラス属細菌由来の酵素遺伝子」である。そうすると、請求の範囲1-15中のL-リジン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明と、請求の範囲16-25の発明との間には、PCT規則13.2における「特別な技術的特徴」は存在しないといえる。

そうすると、請求の範囲には、

- ① 請求の範囲1-15中の、L-リジン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ② 請求の範囲1-15中の、L-バリン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ③ 請求の範囲1-15中の、L-ロイシン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ④ 請求の範囲1-15中の、L-イソロイシン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ⑤ 請求の範囲1-15中の、L-スレオニン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、及び、
  - ⑥ 請求の範囲16-25の発明
- の6発明が包含されている。

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

## 第 V 欄の続き

ミン酸生合成系酵素の活性が増強されたメチロフィラス属細菌を取得し、それを培養してL-グルタミン酸を製造する方法が記載されている。

請求の範囲 1 7

請求の範囲 1 7 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 3 により、新規性を有しない。

文献 3 には、*Bacillus* sp. 株由来のアスパルトキナーゼ II をコードする DNA が記載されている。一方、本国際出願の請求の範囲 1 7 は「配列番号 5 の塩基番号 5 1 0 ~ 1 7 3 6 からなる塩基配列の一部を有するプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アスパルトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA」を包含するところ、ここでの「一部」は任意の「一部」であってよいから、全ての「アスパルトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA」が請求の範囲 1 7 における上記 DNA の条件を満足する。したがって、文献 3 に記載の上記 DNA は、請求の範囲 1 7 に記載の DNA であるといえる。

請求の範囲 1 9

請求の範囲 1 9 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 4 により、新規性を有しない。

文献 4 には、*Pseudomonas aeruginosa* 由来のアスパラギン酸  $\beta$ -セミアルデヒド脱水素酵素をコードする DNA が記載されているから、請求の範囲 1 7 に対して記載した理由と同様の理由により、文献 4 に記載の上記 DNA は、請求の範囲 1 9 に記載の DNA であるといえる。

請求の範囲 2 1

請求の範囲 2 1 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 5 により、新規性を有しない。

文献 5 には、*Corynebacterium glutamicum* 由来の L-2, 3-ジヒドロジピコリン酸合成酵素をコードする DNA が記載されているから、請求の範囲 1 7 に対して記載した理由と同様の理由により、文献 5 に記載の上記 DNA は、請求の範囲 2 1 に記載の DNA であるといえる。

請求の範囲 2 3

請求の範囲 2 3 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 6 により、新規性を有しない。

文献 6 には、*Escherichia coli* 由来のジヒドロジピコリン酸レダクターゼをコードする DNA が記載されているから、請求の範囲 1 7 に対して記載した理由と同様の理由により、文献 6 に記載の上記 DNA は、請求の範囲 2 3 に記載の DNA であるといえる。

請求の範囲 2 5

請求の範囲 2 5 に記載の発明は、国際調査報告で引用した文献 7 により、新規性を有しない。

文献 7 には、*Pseudomonas fluorescens* 由来のメソージアミノピメリン酸脱炭酸酵素をコードする DNA (LysA) が記載されているから、請求の範囲 1 7 に対して記載した理由と同様の理由により、文献 7 に記載の上記 DNA は、請求の範囲 2 5 に記載の DNA であるといえる。

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 B-591MSOP975	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPO0/02295	国際出願日 (日.月.年) 07.04.00	優先日 (日.月.年) 09.04.99	
出願人 (氏名又は名称)  味の素株式会社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 7 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☒ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

## 第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (P C T 1 7 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6. 4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

## 第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

国際出願における発明の単一性の要件 (P C T 規則 1 3. 1) は、請求の範囲に記載された一群の発明の間に一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的關係があるときに限り、満たされるものであって、この「特別な技術的特徴」とは、請求の範囲に記載された各発明が全体として先行技術に対して行う貢献を明示する技術的特徴のことである (P C T 規則 1 3. 2)。また、発明の単一性の要件の判断は、一群の発明が別個の請求の範囲に記載されているか単一の請求の範囲に択一的な形式によって記載されているかを考慮することなく行われる (P C T 規則 1 3. 3)。

そこで、請求の範囲の記載をみると、請求の範囲 1 - 2 5 の発明に共通する事項は「L -

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## 第Ⅲ欄 要約 (第1ページの5の続き)

メタノールを主たる炭素源として生育することができ、かつ、L-アミノ酸生産能を有するメチロフィラス属細菌、例えば、L-リジンによるフィードバック阻害を受けないジヒドロジピコリン酸合成酵素をコードするDNAと、L-リジンによるフィードバック阻害を受けないアスパルトキナーゼをコードするDNAとが細胞内に導入されて形質転換されたことにより、ジヒドロジピコリン酸合成酵素活性及びアスパルトキナーゼ活性が増強されたメチロフィラス属細菌、又はカザミノ酸要求性となったメチロフィラス属細菌を、メタノールを主たる炭素源とする培地に培養し、L-アミノ酸を製造する。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N1/21, 1/32, 9/00, 15/52, C12P13/04

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N1/20-1/21, 9/00-9/99, 15/52-15/61,  
C12P13/04-13/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq,  
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 35831, A2 (IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED) 16.9月.1981 (16.09.81) & NO, 8100773, A & DK, 8100952, A & JP, 56-140893, A & PT, 72630, A & CA, 1187011, A & DE, 3173415, G & RO, 92662, A	1, 4, 11-14
X	WINDASS, J. D. et al., "Improved conversion of methanol to single-cell protein by <i>Methylophilus methylotrophus</i> ", Nature, October 2, 1980, Volume 287, pages 396-401	1, 4, 11-14

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05.07.00

国際調査報告の発送日

18.07.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生

印

4N

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	SCHENDEL, Frederick J. et al., "Cloning and Nucleotide Sequence of the Gene Coding for Aspartokinase II from a Thermophilic Methylophilic <i>Bacillus</i> sp.", Applied and Environmental Microbiology, September 1992, Volume 58, Number 9, pages 2806-2814 GenBank Accession No.M93419	17
X	HOANG, Tung T. et al., "Molecular genetic analysis of the region containing the essential <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>asd</i> gene encoding aspartate- $\beta$ -semialdehyde dehydrogenase", Microbiology, March 1997, Volume 143, Part 3, pages 899-907 GenBank Accession No.U11055	19
X	YAMAMOTO, Yoshihiro et al., "Construction of a Contiguous 874-kb Sequence of the <i>Escherichia coli</i> -K12 Genome corresponding to 50.5-68.8 min on the Linkage Map and Analysis of Its Sequence Features", DNA Research, April 28, 1997, Volume 4, Number 2, pages 91-113 GenBank Accession No.D90877	21
X	BONNASSIE, S. et al., "Nucleotide sequence of the <i>dapA</i> gene from <i>Corynebacterium glutamicum</i> ", Nucleic Acids Research, November 11, 1990, Volume 18, Number 21, page 6421 GenBank Accession No.X53993	21
X	BOUVIER, J. et al., "Nucleotide Sequence and Expression of the <i>Escherichia coli</i> <i>dapB</i> Gene", The Journal of Biological Chemistry, December 10, 1984, Volume 259, Number 23, pages 14829-14834 GenBank Accession No.M10611	23
X	DEKKERS, Linda C. et al., "A site-specific recombinase is required for competitive root colonization by <i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS365", Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, June 9, 1998, Volume 95, Number 12, pages 7051-7056 GenBank Accession No.Y12268	25
A	EP, 37273, A2 (IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED) 7.10月.1981 (07.10.81) & BR, 8101907, A & DK, 8101404, A & JP, 57-8782, A & ZA, 8102086, A & CA, 1187012, A & IL, 62514, A & DE, 3175828, G & KR, 8701127, B	1-25

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 96/41871, A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 27.12月.1996 (27.12.96) & EP, 834559, A1 & SK, 9701705, A3 & CN, 1203629, A & HU, 9900149, A2 & US, 5989875, A & MX, 9710044, A1	1-25
A	KEARNEY, P. et al., "Regulation and routes of biosynthesis of serine and arginine in <i>Methylophilus methylotrophus</i> AS1", FEMS Microbiology Letters, July 1987, Volume 42, Numbers 2-3, pages 109-112	1-25
A	JP, 1-235595, A (協和醗酵工業株式会社) 20.9月.1989 (20.09.89), (ファミリーなし)	1-25
A	JP, 53-34987, A (谷吉樹) 31.3月.1978 (31.03.78), (ファミリーなし)	1-25

## 第II欄の続き

アミノ酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」である。ところで、文献1「特開昭56-140893号公報」及び文献2「Nature, 287(5781), 396-401(1980)」をみると、そこには、大腸菌由来のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GDH)遺伝子を発現し得る状態で導入したメチロフィラス属細菌が記載されており、文献1には更に、この細菌を培養してアミノ酸を製造することについても記載されている(例えば、特許請求の範囲第19項以下参照)。そして、GDH遺伝子は、本国際出願の明細書第13ページにも記載されているように、メチロフィラス属細菌にL-グルタミン酸生産能を付与する遺伝子であるから、文献1又は文献2に記載のメチロフィラス属細菌は「L-グルタミン酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」であるといえる。そうすると、L-アミノ酸の一種であるL-グルタミン酸生産能を有するメチロフィラス属細菌は公知であったから、請求の範囲1-25の発明に共通する事項である「L-アミノ酸生産能を有するメチロフィラス属細菌」は、PCT規則13.2における「特別な技術的特徴」であるとはいえない。

また、メチロフィラス属細菌にL-リジン生産能を付与し得る遺伝子であるコリネバクテリウム属細菌由来のジヒドロジピコリン酸合成酵素の遺伝子は、例えば文献3「Nucleic Acids Res., 18(21), 6421 (1990)」にも記載されているように公知であったから、請求の範囲16-25の発明に共通する「特別な技術的特徴」は、「メチロフィラス属細菌のL-リジン生産能を増強するために使用できる酵素遺伝子」ではなく、「メチロフィラス属細菌のL-リジン生産能を増強するのに使用できる、メチロフィラス属細菌由来の酵素遺伝子」である。そうすると、請求の範囲1-15中のL-リジン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明と、請求の範囲16-25の発明との間には、PCT規則13.2における「特別な技術的特徴」は存在しないといえる。

したがって、請求の範囲には、

- ① 請求の範囲1-15中の、L-リジン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ② 請求の範囲1-15中の、L-バリン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ③ 請求の範囲1-15中の、L-ロイシン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ④ 請求の範囲1-15中の、L-イソロイシン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、
  - ⑤ 請求の範囲1-15中の、L-スレオニン生産能を有するメチロフィラス属細菌に関連した発明、及び、
  - ⑥ 請求の範囲16-25の発明
- の6発明が包含されている。